

|         |   |
|---------|---|
| 氏 名     | 野々村 英典  |
| 授与した学位  | 博 士   |
| 専攻分野の名称 | 工 学   |
| 学位授与番号  | 博甲第5357号  |
| 学位授与の日付 | 平成28年 3月25日   |
| 学位授与の要件 | 自然科学学研究科 化学生命工学専攻<br>(学位規則第5条第1項該当)   |
| 学位論文の題目 | The importance of companion diagnostics for personalized medicine and the application of protein solubilization technology<br>(個別化医療の実現に向けたコンパニオン診断薬の重要性とタンパク質可溶化技術の応用に関する研究) |
| 論文審査委員  | 准教授 二見 淳一郎      教授 今村 維克      教授 大槻 高史  |

### 学位論文内容の要旨

近年、がん領域を中心に、ゲノム情報を活用して個々人の体質を予測し、疾患発症リスクに応じた予防や、罹患時に投与する適切な薬剤を選択する個別化医療への期待が高まっている。

本研究では、がん患者の血清中では、がん抗原に対する抗体が出現することから、抗体価の変動が腫瘍免疫活性を反映するバイオマーカーとして有望視されていることに着目した。がん抗原の大半は、不安定で変性しやすいが、変性タンパク質の可溶化技術を活用して検査薬の開発に取り組んだ。

#### 1. がん細胞内の総タンパク質を可溶化する新規手法の開発

がん組織を生理的な溶媒中で破碎した際には、一部の難溶性画分にタンパク質が含まれるため、患者固有の全抗原を取得する手法には課題があった。検討の結果、細胞内の核酸成分を除去すると、細胞内の総タンパク質が変性状態で高い水溶性を示し、ほぼ完全に可溶化できることが確認された。本手法を活用することで、外科手術で摘出されたがん組織から総タンパク質を完全に可溶化することが可能となった。

#### 2. 腫瘍免疫応答を定量評価する抗がん抗原抗体検査試薬の開発

がん患者に、高頻度に抗体出現が報告されている16種類の抗原を全長の組換えタンパク質として調製した。これらの全長抗原はCys残基に対して正電荷を付与するS-カチオン化により全て安定に可溶化・精製することが可能であった。抗-NY-ESO-1抗体が多く存在するがん患者由来血清を用いて、S-カチオン化NY-ESO-1との結合を確認したところ、高感度な抗原抗体反応が確認され、かつ、Cysに対する化学修飾の影響もほとんどなかった。実臨床を想定し、3種類のS-カチオン化全長抗原をMulti-plexed Luminex ビーズに固定化した予備実験では、400 から 6400 倍希釈のがん患者由来の血清でS/N比の高いシグナルを得た。さらに16種類のS-カチオン化全長抗原を用いたMulti-plexed assay系を構築し、自己 $\gamma\delta$ T細胞移植療法の前後で肺がん患者の血清中での各抗体価を測定した結果、治療予後と抗がん抗原抗体価の上昇に相関があることが確認された。これらの結果は、S-カチオン化全長抗原を用いた抗体検査試薬により、免疫治療後の腫瘍免疫応答を定量評価できた可能性が高く、本手法ががん免疫療法の効果を評価するための有用な診断ツールとなり得ることが示された。

## 論文審査結果の要旨

本学位論文では、医療現場で重要性が増している個別化医療を推進する上での課題と展望について広範に調査し、特に個別化医療が必須となるがん免疫治療分野で求められている技術的な課題について、タンパク質工学的な手法による解決手段を示している。本論文では外科手術で摘出された腫瘍組織からの効率的な抗原回収法と、腫瘍免疫応答の活性化を評価する診断薬開発の2点について述べられている。前者は、腫瘍組織内に含まれる総タンパク質を効率的に可溶化するために、核酸成分を完全に除去する手法が有効なことを示し、タンパク質科学的な考察も含めて述べられている。後者の課題については、がん組織内で腫瘍免疫応答が活性化すると、血清中に様々ながん抗原に対する抗体が出現する現象（Antigen spreading）に着目し、これを高感度に測定する技術を開発している。Cys 残基に正電荷を付与するタンパク質可溶化技術と磁気ビーズアッセイを組み合わせた技術を活用して、がん患者由来の血清中の抗体価を調査した結果、Antigen spreading の活性化と治療予後が良く相関することを示した。以上の研究成果は、査読付きの2報の原著論文（うち1報は第一著者相当）としても受理されており、学位論文として相応しいものと判断した。